

AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA TRANSPOSIÇÃO DE ESCALAS PARA A DETERMINAÇÃO DE SOLUBILIDADE

Giovana Ferrari Leite (PIC/Uem), Tatiana Mariko Kano Abe (Coautor), João Marcos Piai (Coautor), Arthur Henrique Pereira Lobato (Coautor), Prof^a Dra. Andrea Diniz (Orientadora), Prof^a Dra. Fernanda Belincanta Borghi Pangoni (Coorientadora). E-mail: adiniz@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde, Farmácia.

Palavras-chave: Solubilidade termodinâmica; Microescala; Transposição de Escala.

RESUMO

A rutina (RU) é um flavonoide com propriedades terapêuticas como ação anti-inflamatória, antioxidante, vasoprotetora e antitrombótico, presente em várias plantas, mas sua baixa solubilidade limita aplicações farmacêuticas. A complexação com beta-ciclodextrina (β -CD) é uma estratégia promissora. Este trabalho avaliou o impacto da transposição de escala na determinação da solubilidade da RU e de seus complexos com β -CD, comparando dois recipientes, Erlenmeyers de 250 mL e microtubo de 10 mL, pelo método shake-flask. Os ensaios foram realizados em diferentes meios de dissolução sendo, meios biorrelevantes: FaSSGF (pH 1.6) e FaSSIF (pH 6.5), farmacopeicos: meio de ácido clorídrico (pH 1.2); tampão fosfato (pH 6.8), e água purificada e quantificados por espectrofotometria UV-Vis (360nm). A solubilidade foi maior em microtubos, especialmente no meio FaSSIF devido a presença de tensoativos. Conclui-se que a miniaturização altera valores numéricos, mas mantém o perfil qualitativo, reforçando a importância da escolha do recipiente.

INTRODUÇÃO

A solubilidade é uma propriedade físico-química indispensável no desenvolvimento de novos fármacos. Sua determinação pode ser realizada por métodos descritos nas farmacopeias, como o shake-flask. O método shake-flask, desenvolvido há mais de 40 anos, embora reconhecido por várias agências regulatórias, apresenta elevado consumo de solvente, pois utiliza frascos de grande volume (Erlenmeyers de 250 mL). Nesse contexto, pautado nos conceitos de sustentabilidade e química verde, há um incentivo para o uso de técnicas que demandem menor volume (miniaturizadas), reduzindo o consumo de solvente, com o objetivo de reduzir resíduos e também a quantidade de amostra utilizada. A rutina (RU) é um flavonoide de interesse terapêutico, possuindo atividade anti-inflamatória, antioxidante, vasoprotetora e antitrombótico. Porém, apresenta baixa solubilidade, exigindo assim, estratégias como a complexação com β -CD para aumentar sua biodisponibilidade. Assim, este estudo avaliou a solubilidade termodinâmica da RU e de seus complexos, em dois

diferentes recipientes, Erlenmeyers de 250 mL e microtubo de 10 mL, como alternativa ecoeficiente (Apley et al., 2017).

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo da mistura e formação dos complexos RU:β-CDS.

Os complexos foram preparados por três métodos: mistura física (MF1:1), amassamento (Am1:1) e co-precipitação (Co), todos na proporção 1:1. Para a MF1:1 a RU e a β-CD, foram homogeneizados em gral por 30min. No Am1:1 os mesmos componentes foram misturados com 10 mL da solução etanol e água (1:1) até a formação de uma pasta, posteriormente seca em dessecador, triturada e armazenada. Por fim, no método Co a β-CD foi solubilizada em água (60°C), resfriada e foi adicionada em etanol, seguida de agitação, filtração e secagem em dessecador. A RU pura foi utilizada como padrão para efeito de comparação (Galvão et al., 2015).

Ensaio de solubilidade

Foram preparados os meios farmacopeico como solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1 M (pH 1,2) e tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8), além dos biorrelevantes FaSSGF (fluido simulado gástrico em jejum) (pH 1,6) e FaSSIF (fluido simulado intestinal em jejum) (pH 6,5) (Brasil, 2024). A solubilidade foi avaliada pelo método shake-flask em incubadora orbital (37°C, 150 rpm, 24 horas). Estabeleceu um excesso de 30% em relação à solubilidade teórica da RU (125 mg/L). Nos ensaios em microescala, foram utilizados microtubos (10 mL), e em macroescala, frascos de Erlenmeyer (250 mL). Todos os testes foram realizados em sextuplicata, protegidos da luz. Após a incubação, as amostras foram centrifugadas (4000 rpm, 25°C, 15 min) e os sobrenadantes foram analisados por espectrofotometria UV-Vis (360nm), metodologia previamente validada ($y = 0,0315x + 0,0219$) (Brito et al., 2003). A análise estatística foi realizada por ANOVA no Excel® ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Preparo da mistura e formação do complexo rutina: beta-ciclodextrina (RU: β-CD)

Todos os complexos apresentaram aspecto visual homogêneo, o complexo MF1:1 apresentou coloração amarela, e as formulação Am1:1 e Co apresentou coloração amarela mais escuro.

Ensaio de solubilidade

O ensaio de solubilidade termodinâmica da Ru e dos complexos RU:β-CD, foi realizado e as amostras foram avaliadas em diferentes meios: FaSSIF (pH 6,5),

FaSSGF (pH 1,6), HCl (pH 1,6), tampão fosfato (pH 6,5) e água purificada. Os resultados estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Resultado do ensaio de solubilidade termodinâmica, realizado em Shake flask, a 37°C, por 24 h, agitação de 150 rpm, determinados em espectrofotômetro UV-Vis (360 nm), em diferentes meios de dissolução, utilizando dois recipientes diferentes (Erlenmeyer de 250 mL e microtubos de 10 ml)

Condição	Formulação	FaSSIF (pH 6,5)	FaSSGF (pH 1,6)	HCl (pH 1,6)	Tampão fosfato (pH 6,5)	Água
Erlenmeyer 250 ml	RU	53,07 ± 2,80 ^b	28,31 ± 1,47 ^{τ, s}	29,12 ± 0,66 ^{q, τ, s}	41,96 ± 2,15 ^{h, i}	32,88 ± 0,64 ^{n, o, p}
	Co	41,02 ± 0,15 ⁱ	28,22 ± 0,52 ^{τ, s}	26,84 ± 1,50 ^s	39,17 ± 1,69 ^{i, j, k}	29,49 ± 1,04 ^{q, τ, s}
	MF1:1	47,06 ± 2,22 ^{d, e, f, g}	31,65 ± 1,03 ^{o, p, q}	26,91 ± 1,32 ^s	44,34 ± 0,79 ^{g, h}	30,46 ± 0,44 ^{p, q, r}
	Am1:1	40,90 ± 1,12 ⁱ	27,03 ± 0,80 ^s	29,12 ± 0,95 ^{q, τ, s}	37,83 ± 0,27 ^{j, k, l}	28,86 ± 1,60 ^{q, τ, s}
Microtubo 10 ml	RU	62,57 ± 1,85 ^a	41,10 ± 0,55 ⁱ	36,24 ± 1,50 ^{k, l, m}	48,56 ± 1,89 ^{c, d, e}	44,95 ± 2,25 ^{g, h}
	Co	45,45 ± 0,91 ^{f, g}	34,43 ± 1,05 ^{m, n, o}	31,90 ± 1,21 ^{o, p, q}	45,87 ± 1,51 ^{e, f, g}	37,11 ± 1,59 ^{j, k, l, m}
	MF1:1	50,50 ± 2,13 ^{b, c}	35,10 ± 1,15 ^{l, m, n}	35,90 ± 0,94 ^{l, m}	49,31 ± 0,71 ^{c, d}	39,58 ± 1,50 ^{i, j}
	Am1:1	48,23 ± 0,69 ^{c, d, e, f}	34,55 ± 0,60 ^{m, n, o}	39,39 ± 1,79 ^{i, j}	48,89 ± 1,41 ^{c, d, e}	39,57 ± 1,10 ^{i, j}

* RU= rutina; Co = co-precipitação; MF1:1 = mistura física 1:1; Am1:1 = Amassamento 1:1. As letras minúsculas representam a análise estatística ANOVA, p < 0,05.

A solubilidade termodinâmica da Ru e dos complexos RU:β-CD foi maior em microtubo do que em Erlenmeyer para todos os meios avaliados, confirmando o impacto da transposição de escala. Em meio FaSSIF, a Ru apresentou solubilidade significativamente maior em microtubo (62,57 ± 1,85 mg/L), uma explicação atribuída seria na presença de tensoativos como lecitina e taurocolato de sódio, enquanto no meio FaSSGF e HCl foi observado o mesmo comportamento, com destaque para a formulação Am1:1. No meio tampão fosfato, a RU pura obteve solubilidade significativamente maior no microtubo (48,56 ± 1,89 mg/L), e em água (44,95 ± 2,25 mg/L). Desse modo, mostra que todas as condições apresentam maior solubilidade significativamente maior no microtubo. Indicando que a transposição de escala afeta no desempenho em termos numéricos (quantitativos) mas em termos qualitativos o resultado foi o mesmo.

CONCLUSÕES

Os complexos de RU: β-CD, obtidos por amassamento, mistura física e co-precipitação, apresentaram aspecto homogêneo e coloração amarela. A transposição de escala, para o método shake-flask, resultou em um aumento significativamente na solubilidade termodinâmica da RU e de seus complexos, sobretudo no meio FaSSIF. Embora os valores quantitativos tenham sido diferentes da macroescala, os resultados qualitativos foram mantidos. Portanto, a escolha do recipiente deve ser considerada na determinação da solubilidade, reforçando a contribuição da química verde na redução de solventes e resíduos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço às professoras Fernanda e Andrea, ao mestrando Arthur, ao doutorando João ao laboratório PKBIO, a UEM e aos órgãos financiadores Capes e CNPq.

REFERÊNCIAS

APLEY, Mike *et al.* Determination of Thermodynamic Solubility of Active Pharmaceutical Ingredients for Veterinary Species: a new usp general chapter. **Dissolution Technologies**, Eua, v. 24, n. 1, p. 36-39, 01 fev. 2017. Dissolution Technologies. <http://dx.doi.org/10.14227/dt240117p36>. Disponível em: https://dissolutiontech.com/issues/201702/DT201702_A04.pdf. Acesso em: 21 ago. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira, vol. 1, 7ª Edição, Brasília, DF, 2024.

BRITO, N.; et al. **Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão.** Pesticidas: R. Ecotoxicol e Meio Ambiente, Curitiba, v. 13, p. 129-146, jan./dez. 2003. Disponível em: <https://revistas.ufpr.br/pesticidas/article/viewFile/3173/2546>. Acesso em: 21 de agosto de 2025.

GALVÃO, J. G. et al. **β -cyclodextrin inclusion complexes containing Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oil: An alternative to control Aedes aegypti larvae.** Thermochemica Acta, v. 608, p. 14–19, 2015.